

Aus der Klinik für Innere Medizin I
(Direktor: Prof. Dr. S. Schreiber)
des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel

**TUMORINFILTRIERENDE MASTZELLEN,
MAKROPHAGEN UND DENDRITISCHE ZELLEN
BEIM MANTELZELL-LYMPHOM:
EINE KLINISCH-PATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Fatih Sirin

aus Berlin

2014

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. habil. C. Schrader

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Klapper

Tag der mündlichen Prüfung: 08.01.2014

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 08.01.2014

gez. Prof. Dr. med. Johann Roider
(Vorsitzender der Prüfungskommission)

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 4 |
| 2.1 | Patienten | 4 |
| 2.2 | Erstellung der Schnittpräparate | 4 |
| 2.3 | Morphologische Untersuchung | 4 |
| 2.4 | Immunhistochemische Untersuchung | 6 |
| 2.5 | Kontrollen | 7 |
| 2.6 | Auswertung der Immunhistochemischen Untersuchung | 8 |
| 2.7 | Statistische Untersuchung | 8 |
| 3 | ERGEBNISSE | 9 |
| 3.1 | Konventionelle Giemsa Färbung | 9 |
| 3.2 | Immunhistochemische Befunde | 12 |
| 3.2.1 | CD117 Färbung | 12 |
| 3.2.2 | CD68 Färbung | 15 |
| 3.2.3 | S100 Färbung | 18 |
| 4 | DISKUSSION | 23 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 31 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS | 33 |
| | DANKSAGUNG | 42 |
| | LEBENS LAUF | 43 |
| | SCHRIFTENVERZEICHNIS | 44 |

1 EINLEITUNG

Die bösartigen Erkrankungen des lymphatischen Systems, die sogenannten malignen Lymphome, nehmen mit den Leukämien einen zunehmenden Anteil bei der Inzidenz der Krebserkrankungen ein. Das Mantelzell-Lymphom (MCL), welches Mitte der 60er Jahre vom Kieler Hämatopathologen Prof. Lennert entdeckt und zunächst als Germinozytom benannt wurde, wird in der Kiel-Klassifikation als centrocytisches Lymphom bezeichnet. Diese gehört in die Gruppe der niedrigmalignen B-Zell-Lymphome (1). Den endgültigen Namen MCL erhielt diese Erkrankung 1992 (2). Die klinische Relevanz der Kiel-Klassifikation zeigte Prof. Brittinger 1984 in einer umfangreichen Untersuchung an über 1000 Patienten (3). Die hochmalignen Lymphome haben im Vergleich zu den niedrigmalignen Lymphomen einen aggressiveren und schnelleren Verlauf. Beim MCL trifft diese Zuordnung nicht zu, weil der klinische Verlauf des MCL aggressiver ist, als die der anderen niedrigmalignen Lymphome und somit eher zu der Klasse der hochmalignen Lymphomen zu zählen ist.

Seit einigen Jahren werden die malignen Lymphome nach der WHO-Klassifikation in ein B- und T-Zell-System vergleichbar mit der Kiel-Klassifikation eingeteilt. Zusätzlich wird zwischen vorläufer und reifzelligen Lymphomen unterschieden (4). Das MCL unterscheidet man zytomorphologisch in vier Subtypen: Den klassischen Typ, den kleinzelligen, den blastoiden und den pleomorphen Typ (5). Die typische Translokation t(11;14) (q13;q32) des MCL entdeckten Williams und Mitarbeiter 1991 (6). Demnach kommt es zu einer Translokation des Onkogens bcl1 von Chromosom 11 in den Immunglobulin-Schwerkettenloкус auf Chromosom 14. Hierdurch kommt es zu einer Überexpression des Cyclin D1, welches zu den Cyclin abhängigen Kinasen des Zellzyklus zählt. Dies führt dann zu einer unkontrollierten Vermehrung der betroffenen Zelle.

Ungefähr 3-10% aller Lymphome sind MCL (7) mit einer medianen Überlebenszeit von 3-4 Jahren (8). Männer sind häufiger betroffen als Frauen (Ratio M:F=3:1) und das Erkrankungsalter betrifft häufig die 60. Lebensdekade. Bei Diagnosestellung liegt in den meisten Fällen ein fortgeschrittenes Stadium (III oder IV) vor (9).

Patienten mit einem MCL zeigen nach konventioneller Chemotherapie häufig Rezidive und haben das schlechteste Gesamtüberleben aller Lymphompatienten (10). Die Standardtherapie ist heutzutage die Immun-Chemotherapie (Rituximab-

CHOP). Bei jungen Patienten im Alter unter 60 Jahren sollte eine Hochdosistherapie gefolgt von einer autologen peripheren Blutstammzell-Transplantation erwogen werden. Letzteres hatte zur Folge, dass die Ansprechraten und das progressionsfreie Überleben erhöht wurden. Dennoch wurde ein Plateau im Gesamtüberleben noch nicht erreicht (11).

Bemerkenswerterweise gibt es auch Patienten mit einem sehr langsam, progredienten Verlauf, die auch eine Gesamtüberlebensrate von über zehn Jahren aufweisen (12). Um solche Patienten, von denen mit der aggressiveren Verlaufsform zu unterscheiden, benötigt man Prognosefaktoren.

Klinische Prognosefaktoren beim MCL sind eine hohe Laktatdehydrogenase-Wert (LDH), ein fortgeschrittenes Stadium, ein schlechter Performance-Status und ein hohes Alter (7). Für die hochmalignen Lymphome etablierte sich der Internationale Prognose Index (IPI), der auch bei den MCL prognostischen Wert zu scheinen hat (7). Andersen und Mitarbeiter zeigten 2002 aber auch, dass es Kollektive gibt, bei denen der IPI prognostisch nicht signifikant ist (13). Hoster und Mitarbeiter haben 2008 den ersten Ansatz für einen spezifischen Prognoseindex (PI) des MCL erarbeitet. Der Mantle cell lymphoma international prognostic index (MIPI) wird in eine Niedrig-, eine Mittlere- und eine Hochrisikogruppe unterteilt. Basierend auf vier unabhängigen Prognosefaktoren, nämlich das Alter, den Performance-Status, den LDH-Wert und der Leukozytenanzahl ist der MIPI der erste PI für das MCL (14).

Die Kieler Arbeitsgruppe um Prof. Parwaresch und PD Dr. Schrader in Zusammenarbeit mit der europäischen Mantelzell-Lymphoma Studiengruppe haben prognostische Marker identifiziert (5). Tiemann, Schrader und Mitarbeiter konnten bei über 300 Patienten mit MCL zeigen, dass eine hohe Proliferationsrate, die durch einen mitotischen- oder Ki-67-Index bestimmt wurden, eine kürzere Gesamtüberlebenszeit aufweist, als niedrigere Proliferationsraten (5). Zusätzlich zeigten sie, dass eine Überexpression von Topoisomerase-II-alpha und minichromosome maintenance protein 6 (MCM6) mit einem schlechten klinischen Verlauf und einem niedrigen Gesamtüberleben assoziiert ist (15), (16). Auch stellte sich heraus, dass Patienten mit einer Überexpression des proliferationsassoziierten Proteins Repp86 (restrictedly expressed proliferation-associated protein 86 kDa) eine schlechtere Prognose haben (17).

Somit spielen proliferationsassoziierte Proteine und deren Hochregulation beim MCL eine prognostische Bedeutung. Aber auch den Tumor infiltrierende nicht maligne Zellen, sogenannte Bystander Zellen, haben einen Einfluß auf das Tumorwachstum. Follikuläre dendritische Zellen (FDC) spielen normalerweise eine Rolle bei der Antigenpräsentation im Lymphknoten. Unterschiedliche Wachstumsmuster der FDC haben einen Einfluß auf den Krankheitsverlauf beim MCL (18).

Neben FDC spielen auch andere infiltrierend reaktive Immunzellen eine Rolle. Diese sind unter anderem T-Lymphozyten, eosinophile Granulozyten, Makrophagen, Interdigitierende dendritische Zellen (IDC) sowie Mast- und Langerhanszellen. Durch die Hilfe von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen sowie deren Rezeptoren können sie miteinander kommunizieren. Außerdem ist die Vermehrung und Ausbreitung der Tumorzellen erheblich von der Blutversorgung des Tumors abhängig (19, 20). Genau diese Versorgung wird durch die Immunzellen und deren Chemokine mit beeinflusst (21). Der Einfluss der tumorinfiltrierenden Immunzellen beim klinischen Verlauf des MCL ist noch nicht an einem größeren Kollektiv untersucht worden.

Ziel dieser Studie ist den prognostischen Wert der tumorinfiltrierenden Mastzellen, Makrophagen und IDC beim MCL zu untersuchen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

Paraffin eingebettetes Lymphknotengewebe aus dem Lymphknotenregister Kiel von 93 Patienten aus zwei Therapiestudien (71 Männer, 22 Frauen) wurden analysiert (3, 22). Das mediane Lebensalter betrug 65 Jahre (Durchschnitt: 63,5 Jahre, Spannweite: 41-86 Jahre). Alle Charakteristika sind in der Tabelle 1 dargestellt. Alle Biopsien sind vor Therapiebeginn entnommen worden. Zum Lymphknotenregister Kiel existiert bereits ein Ethikvotum.

2.2 Erstellung der Schnittpräparate

Die Untersuchungen wurden an bereits angefertigten Schnittpräparaten durchgeführt. Die Anfertigung erfolgte folgendermaßen: Am Schlittenmikrotom (Jung, Heidelberg, Deutschland) wurden aus den formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeproben 3-5µm dicke Schnitte hergestellt und anschließend nach Entspannung im Wasserbad (Medax Nagel, Kiel) bei 45-55 °C auf 3-Aminopropyltriethoxysilan (APES)-beschichtete Adhäsions-Objektträger (Histobond, Marienfeld, Deutschland) überführt. Die Entparaffinierung für 30 Minuten in Xylol folgte nach einer Trocknungszeit von 24 Stunden im Wärmeschrank bei 37°C. Abschließend wurde in einer absteigenden (100-, 96- und 80-prozentigen) Ethanolreihe für jeweils 3 Minuten rehydriert.

2.3 Morphologische Untersuchung

Die Schnittpräparate wurden mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) und nach Giemsa gefärbt. Die Diagnose wurde von einem Referenz-Hämatopathologen und des European MCL Network entsprechend den Kriterien der WHO-Klassifikation bestätigt.

Tabelle 1: Charakteristika der 93 Patienten

| <i>Merkmale</i> | | <i>n (%)</i> |
|---|------------------|--------------|
| <u>Geschlecht:</u> | Männlich | 71 |
| | Weiblich | 22 |
| <u>Alter:</u> | < 60. Lebensjahr | 36 |
| | > 60. Lebensjahr | 57 |
| <u>B-Symptome:</u> | Ja | 38 |
| | Nein | 53 |
| | nicht bekannt | 2 |
| <u>Knochenmarksinfiltration:</u> | Ja | 56 |
| | Nein | 36 |
| | nicht bekannt | 1 |
| <u>Stadium (Ann Arbor):</u> | 1 | 3 |
| | 2 | 4 |
| | 3 | 20 |
| | 4 | 59 |
| <u>Performance Status (WHO):</u> | 0-1 | 69 |
| | ≥ 2 | 22 |
| | nicht bekannt | 2 |
| <u>Extranodale Beteiligung:</u> | Ja | 82 |
| | Nein | 11 |
| <u>Internationaler Prognose Index (IPI-Score):</u> | | |
| 0-1 | | 23 |
| ≥ 2 | | 70 |
| <u>Therapie:</u> | | |
| Chlorambucil+Prednison | | 36 |
| Cyclophosphamid+Vincristin+Prednison (COP) | | 34 |
| Cyclophosphamid+Doxorubicin+Vincristin+Prednison (CHOP) | | 9 |
| Alleinige Extended field-Bestrahlung | | 9 |
| Keine Therapie | | 3 |
| Nicht bekannt | | 2 |

2.4 Immunhistochemische Untersuchung

Für die Antigendarstellung wurden die Epitope im Gewebe mit einer Antigendemaskierung behandelt. Dies erfolgte im Dampfdrucktopf für 2min 45 sec., in dem die Gewebsschnitte in einer 0,01 molaren Zitratpuffer-Lösung im kochenden Puffer behandelt wurden (23). Die Zitratpuffer-Lösung ist aus 10,5 g Zitronensäuremonohydrat (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) hergestellt, das in 5 Liter Aqua dest. gelöst und mit 2 molarer NaOH (Fa. Merck) auf einen pH-Wert von 6,0 titriert wurde. Anschließend sind die Präparate 30 Minuten bei Raumtemperatur und dann für 5 Minuten unter fließendem Leitungswasser abgekühlt worden. Zuletzt sind die Präparate in Waschpuffer, der aus 68,5 g TRIS-HCl, 9 g TRIS-NaOH (beide Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) und 87,8 g NaCl (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) gelegt worden.

Alle Gewebeexzise in der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe spezifischer Primär-Antikörper immunhistochemisch untersucht (siehe Tabelle 2).

Die Gewebeproben wurden mit der StreptABC-Methode immunhistochemisch gefärbt.

Tabelle 2: Übersicht über die verwendeten Primärantikörper

| <i>Antikörper</i> | <i>Antigen</i> | <i>Bezugsquelle</i> |
|--------------------------|-----------------------|----------------------------|
| S100 | S100 | Dako |
| Ki-M1P | CD68 | Hämatopathologie Kiel |
| C-Kit | CD117 | Neomarkers |

Nach der Antigendemaskierung und vor Beginn der Färbung wurden die Schnitte zunächst zur Blockierung der endogenen Peroxidase für 10 Minuten in einem Gemisch aus 4 ml einer 30-prozentigen Wasserstoffperoxid-Lösung (Merck, Deutschland) in 200 ml Methanol (Merck, Deutschland) inkubiert.

Die aus der Maus gewonnenen Primärantikörper, der spezifisch gegen das zu untersuchende Antigen gerichtet ist, wurden zuerst in einer Lösungsmenge von 100µl pro Schnitt in einer feuchten Kammer bei einer Raumtemperatur für eine Stunde inkubiert.

Die Primärantikörper wurden in einem Medium, das aus einer Lösung von 20 ml RPMI (Seomed, Berlin, Deutschland), 0,2 g Natriumacid (Merck, Deutschland) zur Verhinderung einer bakteriellen Besiedlung der Lösung, 20 ml bei 57° C über 60 Minuten wärmeinaktiviertes Rinderserum (Sigma, St. Louis, USA) zur Verminderung von unspezifischen Hintergrundreaktionen und 160 ml Aqua dest., die auf einen pH-Wert von 7,4 titriert wurde, verdünnt.

Dieser Lösung wurden für die Verdünnung der Sekundärantikörper (biotinylierte Kaninchen-Anti-Maus-IgG E354 (DAKO, Hamburg, Deutschland), zusätzlich 10 Vol% inaktiviertes Humanserum zugefügt, um mögliche anti-humane Kreuzreaktionen zu reduzieren. Im Anschluss an die Inkubationszeit mit dem Primärantikörper sowie nach jedem weiteren Färbeschritt wurden die Präparate mit Waschpuffer gespült.

Die Schnitte wurden 30 Minuten lang bei Raumtemperatur mit dem Sekundärantikörper inkubiert und anschließend mit Waschpuffer gewaschen. Im Anschluss wurde ein Peroxidase-konjugierter Streptavidin-Biotin-Komplex (DAKO, Hamburg, Deutschland) hinzugefügt.

Die fünfminütige Kerngegenfärbung mit Hämalalaun nach Mayer (Merck, Darmstadt, Deutschland) erfolgte nach zweimaligem Spülen mit Aqua dest. Die gefärbten Präparate wurden nach zehnminütigem Bläuen mit Leitungswasser in einer aufsteigenden 80-, 96- und 100-prozentigen Ethanolreihe dehydriert und für 5 Minuten in Xylol eingelegt. Abschließend wurden die Gewebeproben mit Pertex (Medite, Burgdorf, Deutschland) eingedeckt. Die gefärbten Gewebeproben waren nun für eine lichtmikroskopische (Axioskop, Zeiss, Deutschland) Untersuchung bereit.

2.5 Kontrollen

Zur Positiv-Kontrolle der Antikörper dienten Färbungen von formalinfixiertem und paraffineingebettetem Tonsillengewebe. Zur Negativ-Kontrolle wurde der primäre Antikörper durch Serum ersetzt. Dies erfolgte bei jedem Färbevorgang.

2.6 Auswertung der immunhistochemischen Untersuchung

Die Auswertung erfolgte durch das Zählen der gefärbten Zellen in den Präparaten, die als positive Zellen gewertet wurden. Dazu stellt man die 400fache Vergrößerung, welche auch High Power Field (HPF) genannt wird, ein. Anschließend bestimmt man pro HPF-Gesichtsfeld die Anzahl der entsprechend markierten Zellen. Bei jedem Präparat wurde dieses Schema zehnmal durchgeführt und in einer Tabelle dokumentiert. Abschließend wurde der Mittelwert aus den zehn ermittelten Werten gebildet.

2.7 Statistische Untersuchung

Die statistische Analyse erfolgte mit der Graph Path Prism (Version 11). Für Univarianzanalyse im Hinblick auf die Überlebenszeit wurde auf die Kaplan-Meier-Methode zurückgegriffen.

3 ERGEBNISSE

3.1 Konventionelle Giemsa- Färbung

Von den insgesamt 93 Fällen waren in 82 Fällen die Giemsa Färbung auswertbar (Abbildung 1). 11 Fälle waren technisch nicht gut auswertbar. Von den 82 auswertbaren Fällen fanden sich minimal 0 Mastzellen, maximal 5 Mastzellen/HPF, im Median 1 Mastzelle und im Durchschnitt 1,1 Mastzellen mit der Standardabweichung von 1,2 positiven Zellen pro HPF gefärbt. Die Hotspot-Analyse zeigte einen minimalen Wert von 0 Mastzellen, einen maximalen von 10, einen Median von 2 und einen Durchschnittswert von 2,8 mit der Standardabweichung von 2,4 Zellen pro HPF (Abbildung 2).

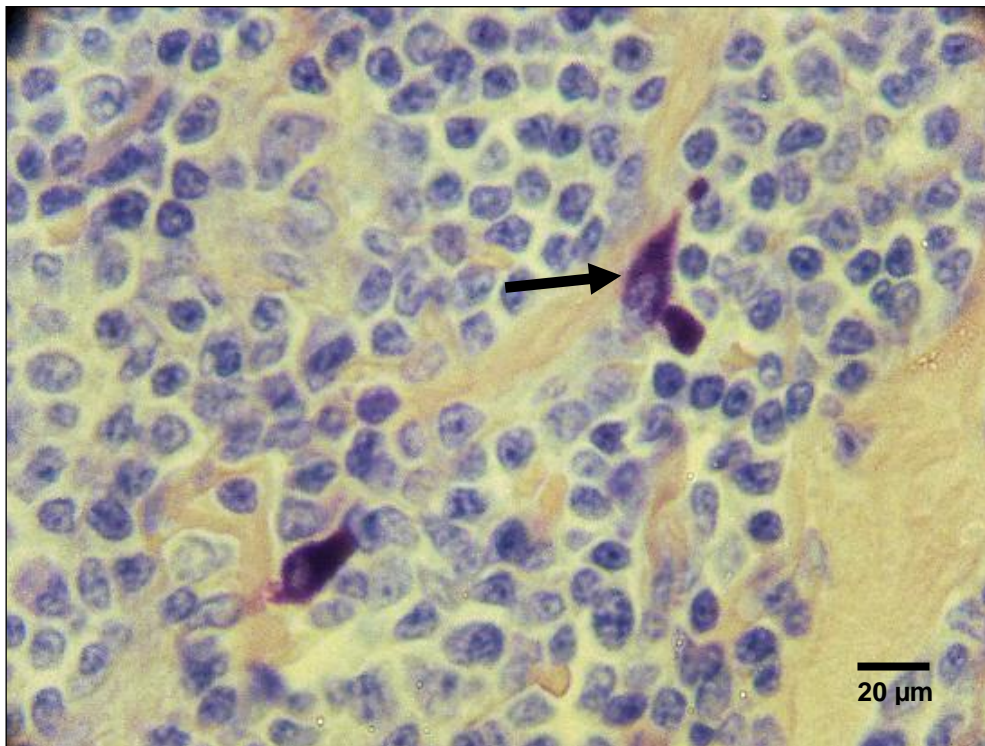


Abbildung 1: Mastzellen im MCL, violett gefärbt (Pfeil) sind positive Zellen. Giemsa Färbung, Vergrößerung x 400.

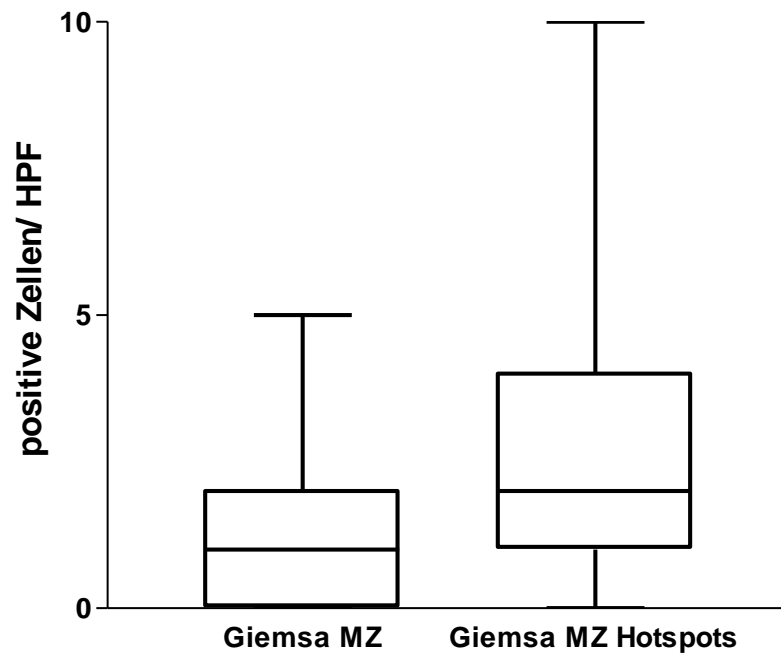


Abbildung 2 : In der Giemsa Färbung positive Mastzellen pro HPF mit Hotspot-Analyse als Box Plot Darstellung (mit Spannweite, Median, oberes und unteres Quartil)

In der Kaplan-Meier-Analyse des Gesamt-Überlebens bei Patienten mit unterschiedlichen Anteil an Tumor infiltrierenden Mastzellen zeigte die Gruppe mit >1 Mastzelle/ HPF eine mediane Überlebenszeit von 25 Monaten im Vergleich zu der Gruppe ≤ 1 Mastzelle/HPF, die eine mediane Überlebenszeit von 30 Monaten hatte. Dieser Unterschied war in der statistischen Auswertung jedoch nicht signifikant (Abbildung 3).

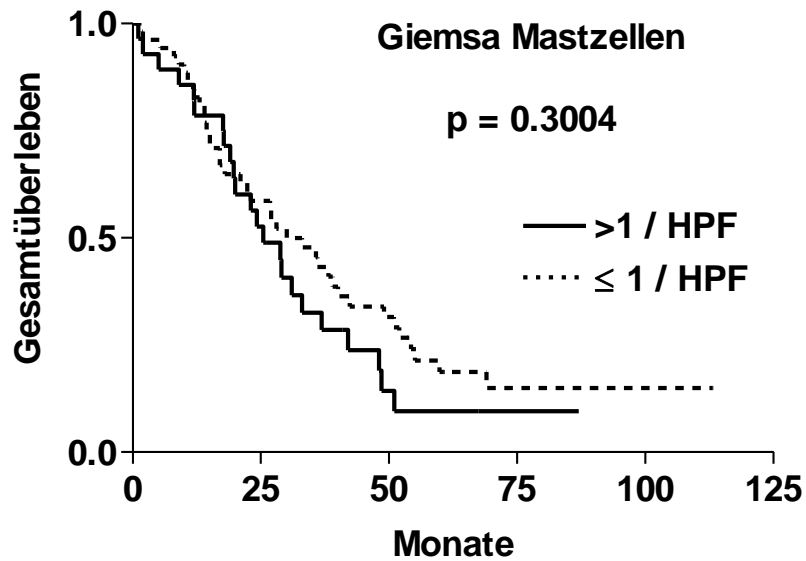


Abbildung 3 : Gesamtüberleben in Monaten im Vergleich zwischen den beiden Gruppen mit >1 Mastzelle/HPF und ≤ 1 Mastzelle/HPF

In der Hotspot-Analyse wies die Gruppe >2 Mastzellen/ HPF eine mediane Überlebenszeit von 28 Monaten auf. Die Gruppe mit ≤ 2 Mastzelle/HPF hatte in der statistischen Auswertung eine mediane Überlebenszeit von 30 Monaten. Der Unterschied im medianen Gesamtüberleben war nicht signifikant (Abbildung 4).

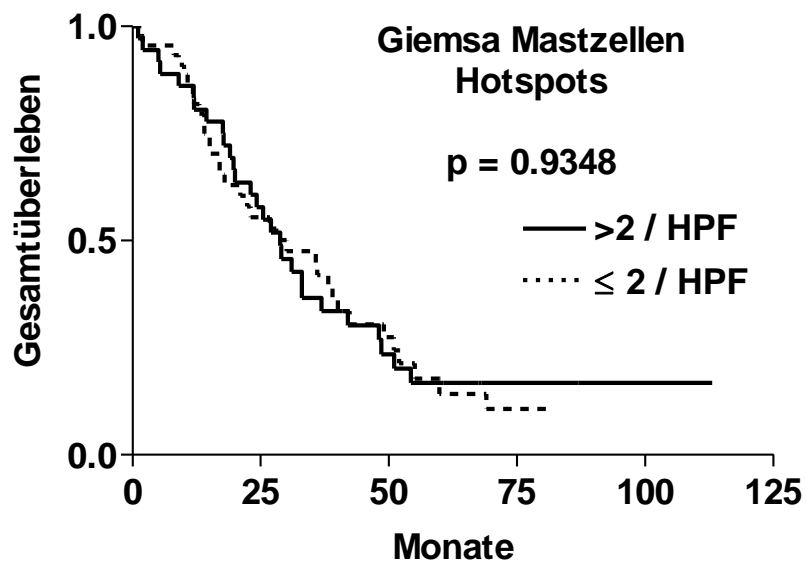


Abbildung 4 : Gesamtüberleben in Monaten im Vergleich zwischen den beiden Gruppen mit >2 Mastzellen/HPF und ≤ 2 Mastzellen/HPF in der Hotspotanalyse

3.2 Immunhistochemische Befunde

3.2.1 CD117 Färbung

In der immunhistochemischen Untersuchung mit CD 117- Färbung waren insgesamt 11 Fälle nicht ausreichend auswertbar. Somit waren von den insgesamt 93 untersuchten Fällen 82 Fälle hinsichtlich einer Färbung mit CD 117 auswertbar (Abbildung 5). Mit Hilfe der mikroskopischen Auswertung fand sich eine Spannweite von 0 bis maximal 16 positive Zellen/ HPF mit einem Median von 2/ HPF und einem Mittelwert 3,1 Mastzellen/HPF. In der Hotspot-Analyse stellte sich die Auswertung wie folgt dar: Es fand sich eine Spannweite von 0 bis 31/ HPF im Median 5/HPF mit einem Mittelwert von 6,6 Mastzellen/ HPF (Abbildung 6).



Abbildung 5: Immunhistochemischer Nachweis von CD117, braun gefärbt (Pfeil) sind positive Zellen. ABC Methode, Vergrößerung x400

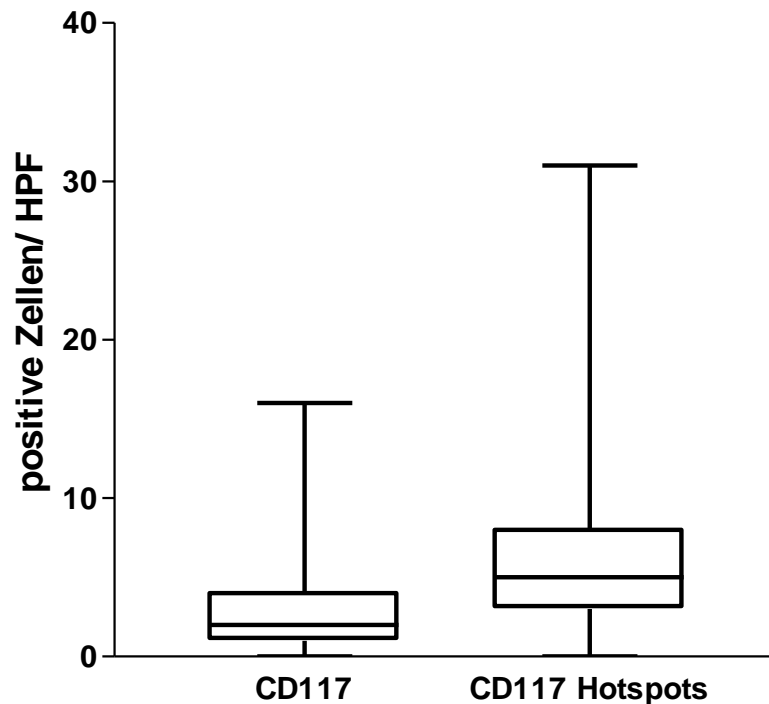


Abbildung 6 : Verteilung der positiven Mastzellen nach der CD117 Färbung im Durchschnitt und bei den Hotspots als Box-Plot Analyse (mit Spannweite, Median, oberes und unteres Quartil)

Die Patienten mit MCL und >2 Mastzellen/HPF hatten ein medianes Gesamtüberleben von 32 Monaten. In der Kaplan-Meier-Analyse zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0.8370$) im Vergleich zur Gruppe ≤ 2 Mastzellen pro HPF mit einem medianen Gesamtüberleben von 31 Monaten (Abbildung 7).

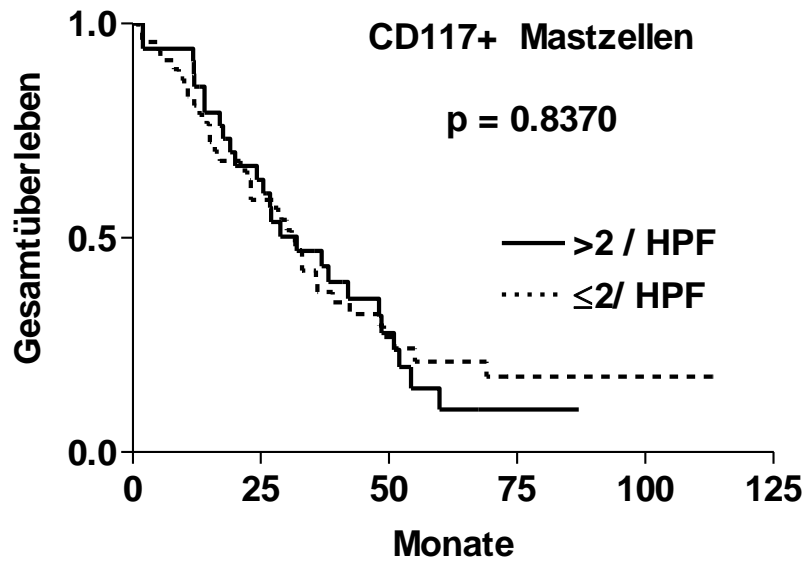


Abbildung 7 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen mit >2 und ≤ 2 Mastzellen/HPF

In der Untersuchung der Hotspots der CD 117 positiven Mastzellen zeigte sich ebenfalls kein statistischer Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den beiden Gruppen mit >5 Mastzellen/HPF und ≤ 5 Mastzellen/HPF dar ($p=0.9229$, Abbildung 8).

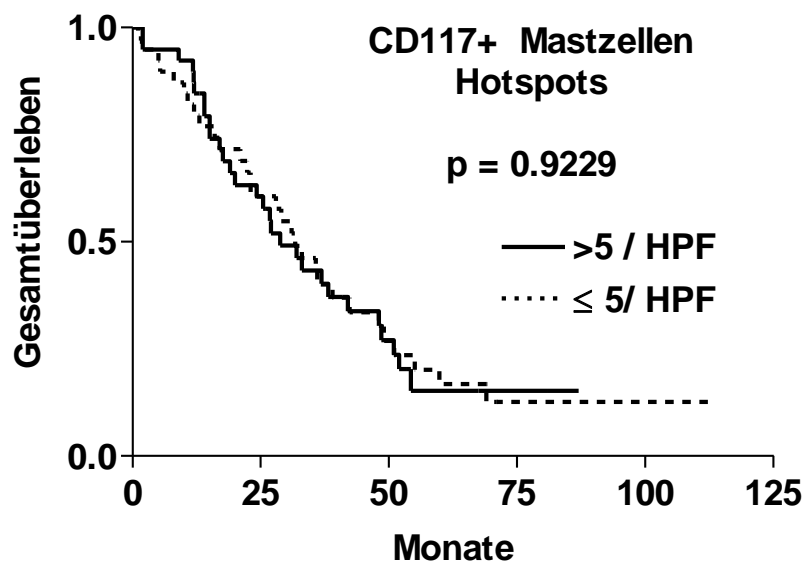


Abbildung 8 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen >5 und ≤ 5 Mastzellen/HPF in der Hotspotanalyse

3.2.2 CD68 Färbung

Von den insgesamt 93 Fällen waren 78 Fälle sicher auswertbar (Abbildung 9). Die Auswertung der Ergebnisse ergab eine Spannweite von 1 bis 42/HPF, einen Median bei 9 und einen Mittelwert von 12/HPF. In der Hotspot-Analyse war die Spannweite von 4 bis 65/HPF, im Median 16 und im Mittel 20 Makrophagen/HPF (Abbildung 10).

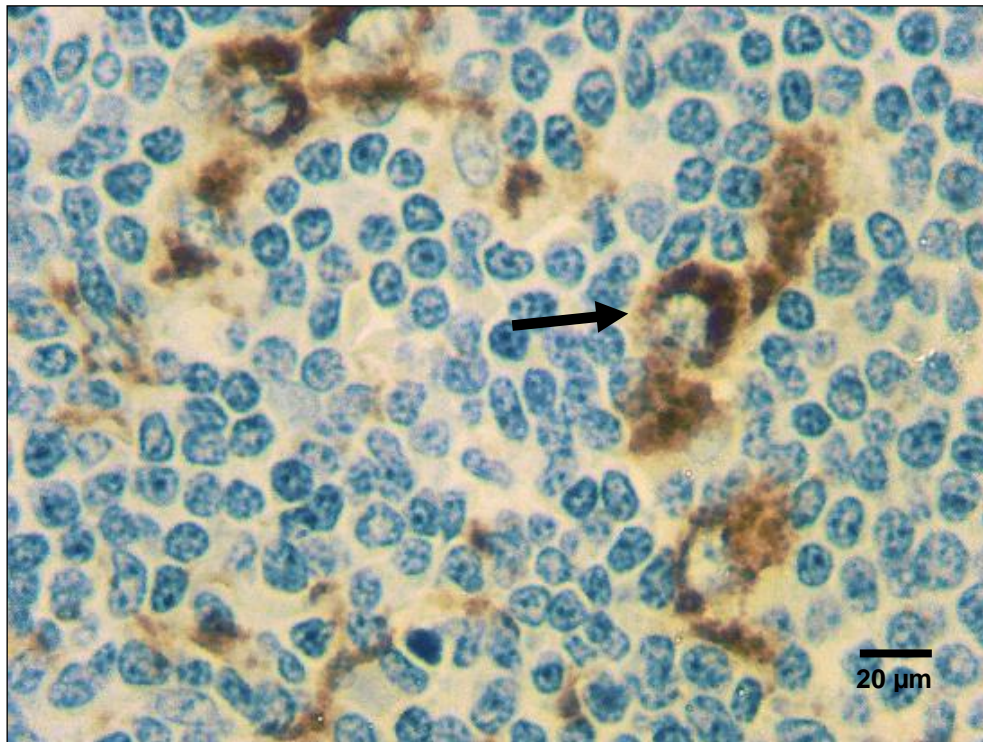


Abbildung 9: Immunhistochemischer Nachweis von CD68 positiven reaktiven Makrophagen im MCL, braun gefärbte Zellen (Pfeil) sind positiv. Ki-M1P Färbung, ABC Methode, Vergrößerung x400

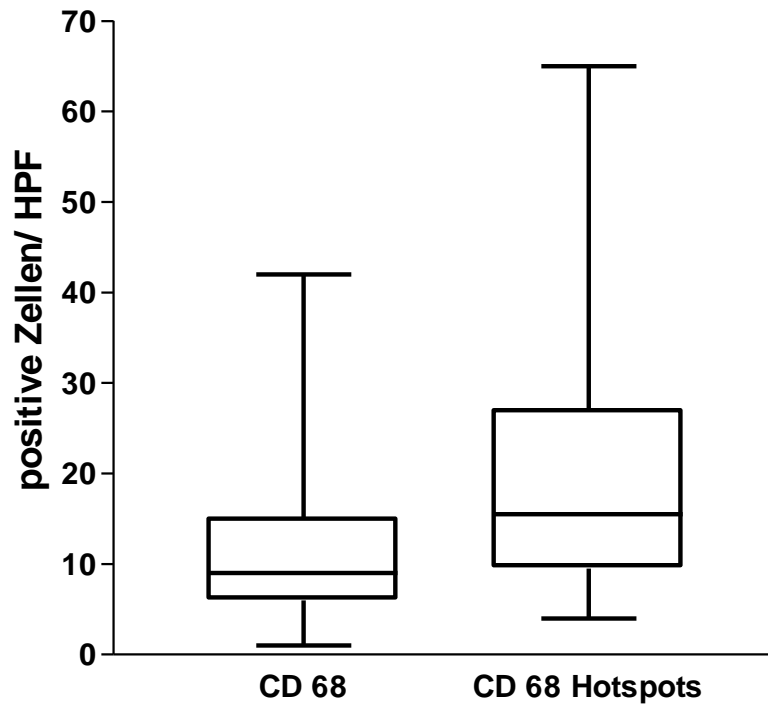


Abbildung 10 : Verteilung der positiven Makrophagen/HPF der CD68 Färbung als Box-Plot Analyse (mit Spannweite, Median, oberes und unteres Quartil)

Die Univarianz-Kaplan-Meier-Analyse zeigt mit einem p-Wert von 0,0059 einen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den beiden Vergleichsgruppen dar. In der Hotspot-Analyse hat die Gruppe >20 Makrophagen/HPF ein medianes Gesamtüberleben von 24 Monaten. Die Gruppe mit ≤ 20 Makrophagen/HPF hat ein deutlich längeres Gesamtüberleben von 38 Monaten und somit im Median ein signifikant längeres Gesamtüberleben von über 14 Monaten ($p=0.0059$, Abbildung 11).

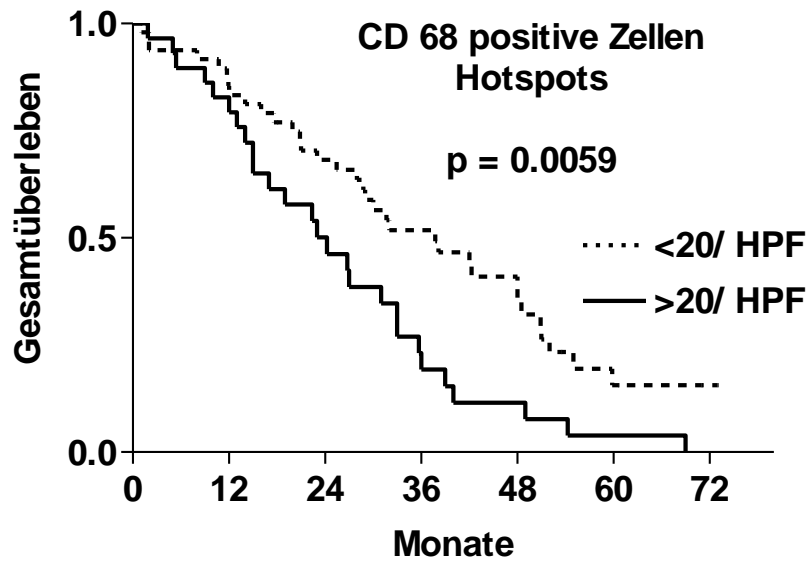


Abbildung 11 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen mit >20 und ≤20 CD68 positiven Zellen (Makrophagen)/HPF in der Hotspotanalyse

In der Standardauswertung der CD68 Färbung konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben mit einem p-Wert von 0,0267 gezeigt werden. Hier hat die Gruppe >10 tumorinfiltrierenden Makrophagen/HPF ein Gesamtüberleben von 24 Monaten im Vergleich zur Gruppe mit ≤10 Makrophagen/HPF mit einem Gesamtüberleben von 38 Monaten. Die Univarianz-Kaplan-Meier-Analyse zeigte eine deutlich signifikant bessere Prognose hinsichtlich des Gesamtüberlebens für Patienten mit durchschnittlich weniger als 10 Makrophagen/HPF im Tumor (Abbildung 12, Tabelle 3).

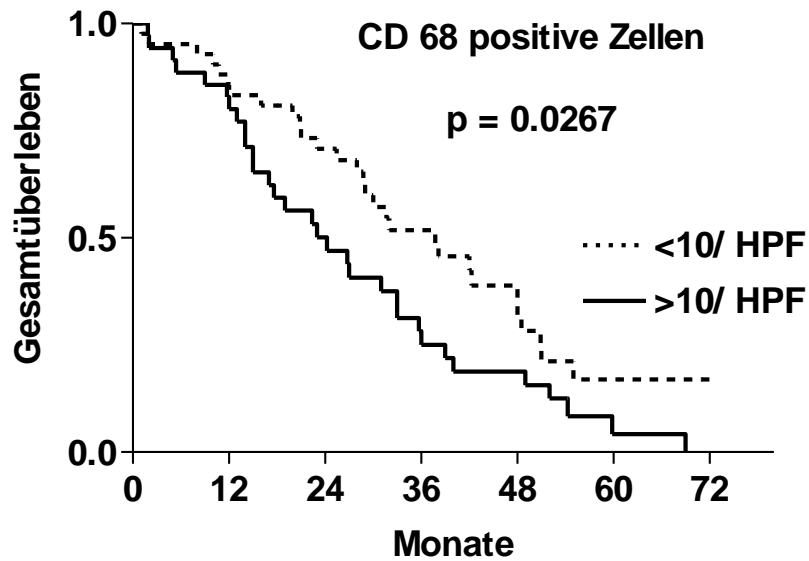


Abbildung 12 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen >10 und ≤10 Makrophagen/HPF

3.2.3 S100 Färbung

Die S100 Färbung ist bei 83 Fällen sicher auswertbar gewesen (Abbildung 13). Die statistische Auswertung ergab eine Spannweite von 0 bis 17 positiven Zellen/HPF, einen Median von 3 und einen Mittelwert von 4 positiven Zellen/HPF. In der Hotspot-Analyse fand sich eine Spannweite von 0 positiven Zellen/HPF bis 33/HPF, einen Median von 8/HPF und einen Mittelwert von 10 positiven Zellen/HPF (Abbildung 14, Tabelle 3).

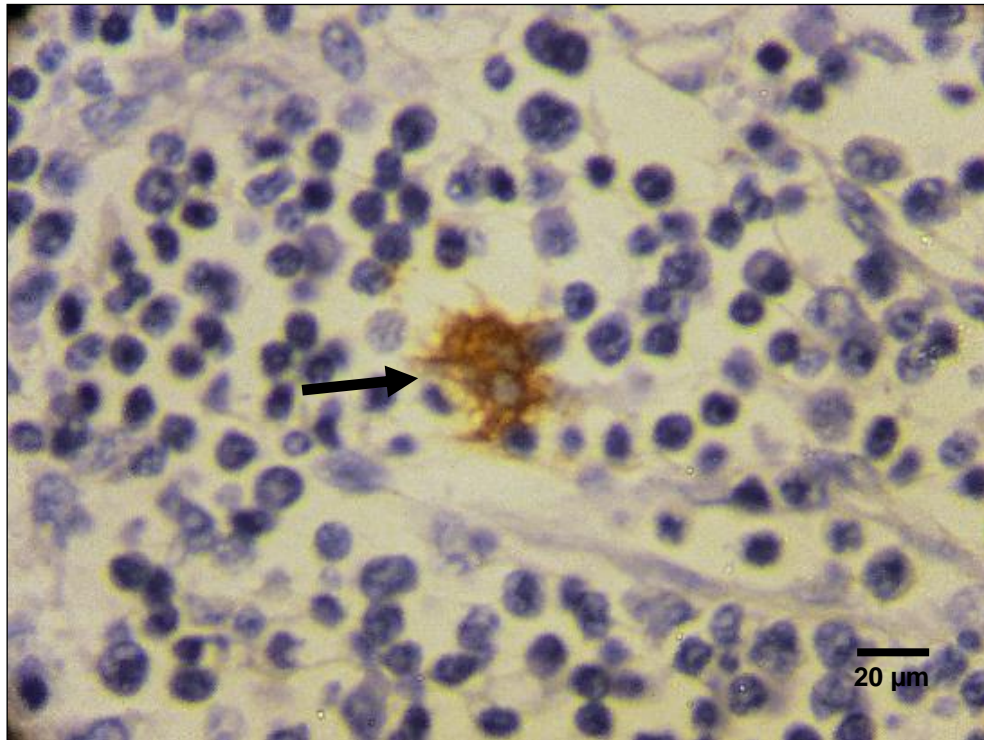


Abbildung 13: Immunhistochemischer Nachweis von S-100 positiven IDC (Pfeil) im MCL. braun = positive Zellen, blau = Tumorzellen. S100 Färbung, ABC Methode, Vergrößerung x400

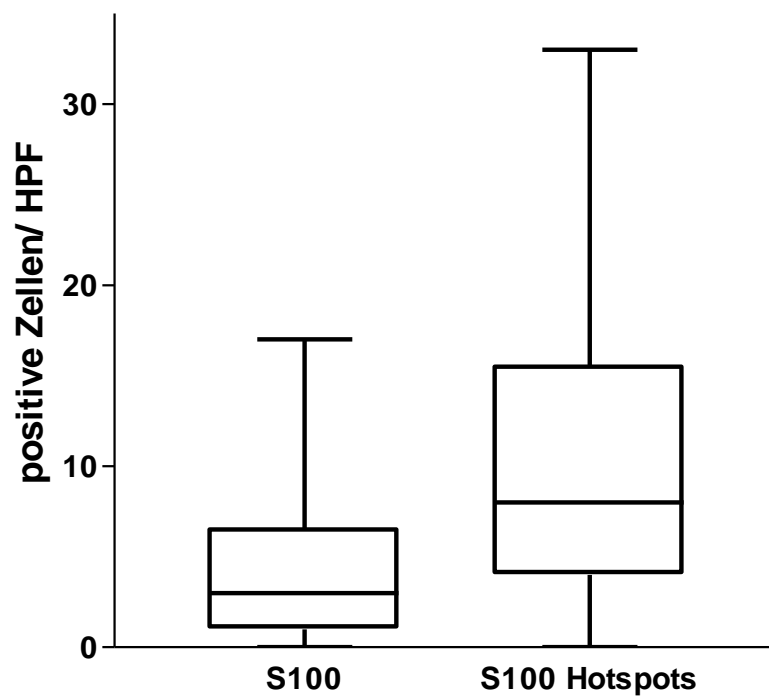


Abbildung 14 : Verteilung der S100 positiven IDC als Box-Plot Analyse (mit Spannweite, Median, oberes und unteres Quartil)

In der Kaplan-Meier-Analyse der S100 positiv gefärbten Zellen stellte sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den beiden Gruppen dar. Die Gruppe ≥ 4 /HPF positiven IDC im Tumor haben ein medianes Gesamtüberleben von 23 Monaten. Demgegenüber hat das Kollektiv mit ≤ 4 /HPF tumorinfiltrierenden IDC ein medianes Gesamtüberleben von etwa 36 Monaten. Es konnte kein signifikanter Unterschied ($p=0.6120$) gezeigt werden (Abbildung 15, Tabelle 3).

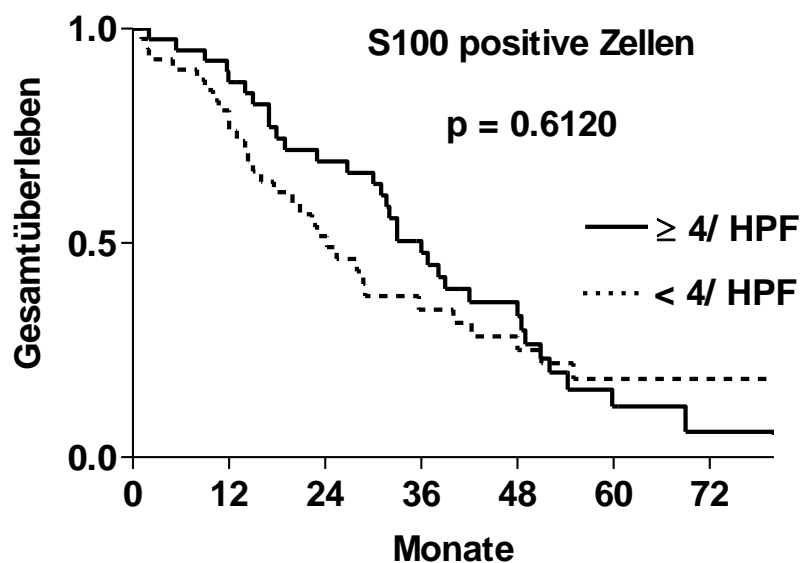


Abbildung 15 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen mit < 4 und ≥ 4 S100 positiven Zellen/HPF

Die Kaplan-Meier-Analyse stellt mit einem p-Wert von 0.2937 keinen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den beiden Vergleichsgruppen dar. In der Hotspot-Analyse hat die Gruppe gleich und über 10 IDC/HPF ein medianes Gesamtüberleben von etwa 37 Monaten. Die Gruppe mit < 10 IDC/HPF hatte ein deutlich kürzeres Gesamtüberleben von 24 Monaten. Dieser Unterschied von ca. 13 Monaten längerem Gesamtüberleben ist jedoch statistisch nicht signifikant (Abbildung 16, Tabelle 3).

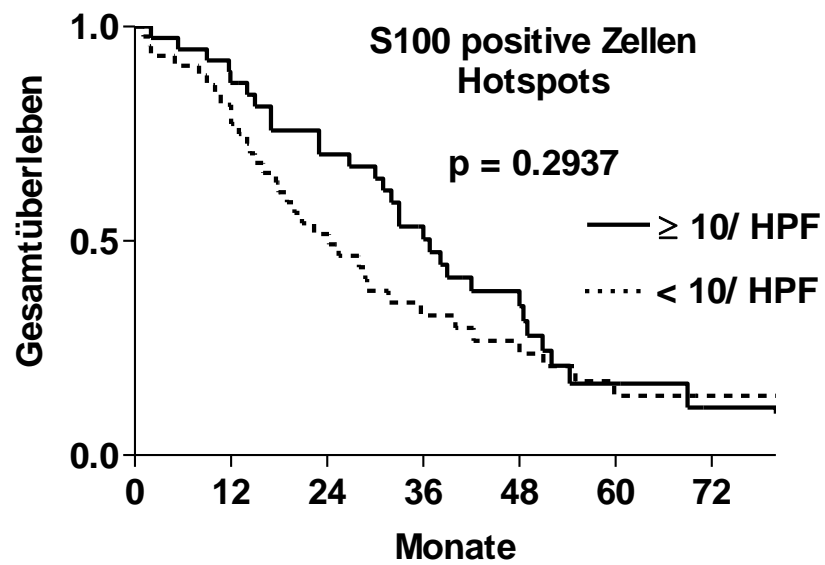


Abbildung 16 : Kaplan-Meier-Analyse des Gesamtüberlebens in Monaten der beiden Gruppen mit ≥ 10 und $< 10/\text{HPF}$ positiven in der Hotspotanalyse

Tabelle 3: Univarianz-Cox-Regressionsanalyse der medianen Überlebenszeit und der Verteilung der Anzahl der Immunzellen je nach Färbung

| | | Überlebenszeit | | |
|--|-------|-----------------|---------------|--------------|
| Antigen | n (%) | Median (Monate) | p-Wert | Hazard Ratio |
| <u>CD117 (Mastzellen)</u> | | | | |
| < 2 | 48 | 31 | 0.8370 | 1.054 |
| > 2 | 34 | 32 | | |
| n.a. | 11 | | | |
| <u>CD117 (Mastzellen) Hotspots</u> | | | | |
| n.a. | 11 | | | |
| < 5 | 40 | 31.7 | 0.9229 | 1.025 |
| > 5 | 39 | 28.8 | | |
| <u>Giemsa (Mastzellen)</u> | | | | |
| n.a. | 11 | | | |
| < 1 | 54 | 30 | 0.3004 | 1.308 |
| > 1 | 28 | 25.4 | | |
| <u>Giemsa (Mastzellen) Hotspots</u> | | | | |
| n.a. | 11 | | | |
| < 2 | 30 | 30.0 | 0.9348 | 0.9794 |
| > 2 | 29 | 28.8 | | |
| <u>CD68 (Makrophagen)</u> | | | | |
| n.a. | 15 | | | |
| < 10 | 43 | 37.7 | 0.0267 | 1.745 |
| > 10 | 35 | 24.2 | | |
| <u>CD68 (Makrophagen) Hotspots</u> | | | | |
| n.a. | 15 | | | |
| < 20 | 49 | 37.7 | 0.0059 | 1.985 |
| > 20 | 29 | 24.2 | | |
| <u>S100 (IDC)</u> | | | | |
| n.a. | 10 | | | |
| < 4 Zellen/HPF | 43 | 24.2 | 0.6120 | 0.8813 |
| > 4 Zellen/HPF | 40 | 36 | | |
| <u>S100 (IDC) Hotspots</u> | | | | |
| n.a. | 10 | | | |
| < 10 Zellen/HPF | 38 | 24.2 | 0.2937 | 0.7694 |
| > 10 Zellen/HPF | 45 | 36.8 | | |

n.a.: nicht auswertbar

4 DISKUSSION

In den 60er Jahren beschrieb Prof. Lennert (1, 24) erstmals das MCL, welches ein malignes Non-Hodgkin-Lymphom der B-Zellreihe ist und sich aus den lymphatischen Zellen der perifollikulären Mantelzone des Lymphknotens ableitet sowie ca. 5-10% aller malignen Non-Hodgkin-Lymphome ausmacht (9,25). Das MCL weist eine charakteristische chromosomale Aberration, die Translokation $t(11;14)(q13;q32)$ auf, die zu einer Umlagerung des Onkogens *bcl-1* von Chromosom 11 in den Schwereketten-Immunglobulinloкус auf Chromosom 14 führt (6). Diese Umlagerung ist für die Überexpression des *bcl-1* Gens, das auch Cyclin D1 genannt wird, verantwortlich. Das Cyclin D1 ist ein Zellzyklusprotein, das im Zellzyklus für die Regulation des Überganges der Zelle von der G1- in die S-Phase zuständig ist. Das hohe Angebot an Cyclin D1 führt zu einer vermehrten Beförderung der Zelle in die S-Phase.

Die mediane Überlebenszeit von 3-4 Jahren spricht für einen aggressiven bzw. schlechten klinischen Verlauf (8). Neben den Patienten mit schlechter Überlebensrate gibt es interessanterweise auch, Patienten mit sehr langen Verläufen und Überlebenszeiten über 10 Jahren (12). Um diese Patienten zu differenzieren und dementsprechend adäquat zu therapieren, untersucht man heute verschiedene Prognosefaktoren. Neben den proliferationsassoziierten Proteinen wie Ki-67, Repp86 und MCM6 (5, 16, 17) spielen heute bei soliden Tumoren und einzelnen malignen Lymphomen auch tumorinfiltrierende Immunzellen eine Rolle im Krankheitsverlauf.

Eine wegweisende Arbeit auf diesem Gebiet wurde von der Arbeitsgruppe Zhang und Mitarbeiter beim Ovarialkarzinom durchgeführt (26). Diese konnten zeigen, dass die 5-Jahres-Überlebensrate von 38% bei Patienten mit hoher Anzahl von tumorinfiltrierenden T-Zellen im Vergleich zu 4,5% bei Patienten ohne oder wenigen tumorinfiltrierenden T-Zellen ist. Nach der tumorreduktiven Chemotherapie lag die 5-Jahres-Überlebensrate bei Patienten mit tumorinfiltrierenden T-Zellen sogar bei 73,9% im Vergleich zu Patienten ohne tumorinfiltrierende T-Zellen mit 11,9 % (26). Außerdem ist die Anwesenheit der T-Zellen mit einem erhöhten Interferon-gamma, Interleukin-2 und mit erhöhten lymphozyten-anziehenden Chemokinen assoziiert, wobei die Abwesenheit der T-Zellen mit gesteigertem vascular endothelial growth factor(VEGF) assoziiert ist (26) . In dieser Arbeit wird deutlich, dass der Zustand und

die Aktivität des eigenen Immunsystems gegen eine bösartige Erkrankung einen Einfluß auf den Krankheitsverlauf haben kann. Vergleichbare Ergebnisse wurden beim Malignen Melanom beobachtet. Hier nahm die Größe des Melanoms mit dem Maß der Infiltration von tumorinfiltrierenden T-Zellen ab. Zusätzlich hatten Patienten mit tumorinfiltrierenden T-Zellen einen günstigeren Metastasierungsgrad und ein besseres Gesamtüberleben (27). Auch beim Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer hohen Anzahl an tumorinfiltrierenden Makrophagen und CD8-positiven T-Zellen im Vergleich zu Patienten mit einer geringen Anzahl an Makrophagen und CD8-positiven T-Zellen ein insgesamt besseres Gesamtüberleben hatten (28, 29). Die T-Zellen haben über Stimulation mit Interleukin 10 (IL10) einen aktivierenden Einfluß auf die Makrophagen. Diese Tumor assoziierten Makrophagen, sogenannte TAM's, haben einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei soliden malignen Erkrankungen, wie bereits beim Beispiel des Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinoms beschrieben.

Immunologisch interessanter sind bösartige Erkrankungen des hämatologischen Systems, wie die Leukämien und malignen Lymphome, da diese durch den Austausch des Immunsystems, wie dies bei einer allogenen Stammzelltransplantation (oder Knochenmarktransplantation) durchgeführt wird, geheilt werden können. So konnte Dreger, Ritgen und Mitarbeiter zeigen, dass die Tumorlast bei einer Chronischen Lymphatischen Leukämie (B-CLL) nach einer allogenen Transplantation mit zunehmender Transplantat gegen Wirt Reaktion und abnehmender Immunsuppression deutlich abnimmt, im Vergleich zu Patienten, die keine Transplantat gegen Wirt Reaktion zeigten (30, 31). Dieses Erkenntnis verstärkt die Vermutung, dass das transplantierte Immunsystem mit seinen Immunzellen eine wesentliche Rolle bei der Eliminierung des Tumors spielt.

Die Vorstufe der Makrophagen ist die myeloische Vorläuferzelle, die aus den sogenannten hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark gereift ist. Makrophagen findet man in vielen Körpergeweben vor, in denen sie bei der angeborenen Immunität eine entscheidende Rolle spielen. Je nach Lokalisation und Stimulierung nehmen sie verschiedene Formen an. Deswegen haben sie auch je nach Gewebe verschiedene Namen erhalten – im zentralen Nervensystem heißen sie Mikrogliazellen, in der Lunge Alveolarmakrophagen, in der Leber Kupffer-Sternzellen, im Knochen Osteoklasten, in der Haut Langerhanszellen, im

Knorpelgewebe Chondroklasten und im Bindegewebe Histiozyten. Außerdem sind sie in der Lage zu Riesenzellen zu fusionieren, um größere Fragmente bzw. Pathogene umschließen zu können.

Makrophagen besitzen die Eigenschaft viele verschiedene Bakterien ohne vorherigen Kontakt zu eliminieren. Diese Art der Verteidigung erfolgt antigenunspezifisch gegen eine Reihe verschiedener Krankheitserreger. Im Laufe der Zeit haben aber die Krankheitserreger Mechanismen entwickelt mit denen sie die Eliminierung durch Makrophagen umgehen. Um diese Pathogene trotzdem zerstören zu können, erfüllen die Makrophagen eine weitere wichtige Funktion im Immunsystem. Sie dienen als professionelle Antigenpräsentierende Zellen, die das adaptive Immunsystem aktivieren. Dies erfolgt durch die Ausbildung von MHC-Klasse-II Molekülen, die die Peptidbestandteile des Erregers auf der Oberfläche präsentieren. Um die Mikroorganismen erst einmal zu erkennen, besitzen sie eine Vielzahl an Rezeptoren – unter anderem den Mannoserezeptor und den scavenger(„Fress“)-Rezeptor. Nach der Phagocytose wird der Erreger in Endosomen und Lysosomen in seine Bestandteile zerkleinert, die dann mit Hilfe der MHC-Klasse-II Molekülen an der Oberfläche präsentiert werden.

Eine weitere wichtige Funktion ist die Zerstörung der Krankheitserreger wie z. B. Mycobakterien, die verantwortlich für Tuberkulose und Lepra sind, durch die T-H1-Zellen-Aktivierung der Makrophagen. Ohne diese Aktivierung reifen und vermehren sich die Pathogene geschützt in den Makrophagen. Diese Makrophagenreaktion beeinflusst im wesentlichen Maße den Krankheitsverlauf bei der Infektion mit dem HI-Virus und bestimmten Tumorzellen.

Beim Follikulär Lymphom korreliert eine hohe Anzahl an TAM mit einer schlechteren Prognose als eine niedrige Anzahl an Makrophagen. Bei der zusätzlichen Gabe von Rituximab war ein signifikanter Unterschied nicht mehr beobachtet worden (32). Taskinen und Mitarbeiter (33) haben vergleichbare Ergebnisse präsentiert. Sie stellten auch fest, dass Rituximab die schlechte Prognose bei einer hohen Anzahl an TAM verbessert. Sie haben sogar gezeigt, dass diese Patienten ein besseres Gesamtüberleben aufweisen als Patienten mit weniger Makrophagen (33). Beim Diffus Großzelligem B-Zell Lymphom konnte keine signifikante Korrelation zwischen den TAM und dem Gesamtüberleben gezeigt werden (34).

In unserer Untersuchung von insgesamt 93 Fällen mit einem MCL konnte sowohl in der Standardauswertung als auch in der Hotspotanalyse ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben gezeigt werden. Mit einem signifikanten Unterschied von $p=0.0267$ leben Patienten mit unter 10 Makrophagen pro HPF im Mittel 14 Monate länger als Patienten mit über 10 Makrophagen/HPF. In der Hotspot-Analyse war der Cutoff-Wert bei 20 Makrophagen pro High-Powerfield. Hier zeigten sich gleichartige Ergebnisse. Patienten mit mehr als 20 Makrophagen/HPF haben eine schlechtere Prognose als wenn weniger Makrophagen im Tumor nachweisbar sind. Somit ist eine geringere tumorinfiltrierende Makrophagen Dichte für das Gesamtüberleben günstiger und als prognostischer Marker ebenfalls nutzbar. Diese Ergebnisse stimmen mit den bisherigen Studien über den Einfluss der Makrophagen bei malignen Erkrankungen (Follikulär Lymphom) hinsichtlich des Gesamtüberlebens überein (32, 33). Wieso eine hohe Anzahl an Makrophagen sich negativ auf das Gesamtüberleben auswirkt, ist bisher nicht genau verstanden. Ein möglicher Erklärungsansatz ist die TH1-Zellen-Aktivierung der Makrophagen, die eine wesentliche Rolle bei der Immunreaktion gegen Erreger und Tumoren spielt.

Auch bei den Mastzellen korreliert ihre hohe Anzahl mit einer schlechteren Prognose. Beer und Mitarbeiter stellten 2008 beim Merkelzell-Karzinom fest, dass das vermehrte Vorkommen von tumorinfiltrierenden Mastzellen mit einer erhöhten Tumorgroße und entsprechend schlechteren Prognose korreliert (35). Bei über 200 Patienten mit einem Leberzellkarzinom fand man heraus, dass Patienten mit einer hohen Anzahl an Mastzellen eine schlechtere Prognose aufwiesen als Patienten mit wenigen Mastzellen. Die zusätzliche Anwesenheit der T-regulatorischen-Zellen verbesserte den klinischen Verlauf (36). Auch beim primär Kolorektalen Karzinom korreliert eine geringere Mastzellen Anzahl mit einem signifikant besserem Überleben als bei einer hohen Anzahl an Mastzellen (37).

Mastzellen kommen im menschlichen Körper vor allem im Bindegewebe der Haut, der Lunge und im Gastrointestinaltrakt vor (38). Sie stammen aus den Stammzellen der myeloischen Zellreihe ab, wie auch Granulozyten und Monozyten. Als unreife Zellen migrieren sie aus dem Knochenmark in ihr Zielgewebe, wo sie dann ihre Reifung durchlaufen (39, 40, 41). Eine der wichtigsten Funktionen ist die Beteiligung an der allergischen Reaktion. Ferner sind sie an fibrotisch-chronischen-entzündlichen Prozessen beteiligt. Dabei wirkt Tryptase, eine Protease, chemotaktisch und

mitotisch auf Fibroblasten und glatte Muskelzellen (42). Mastzellen besitzen unterschiedlich viele Mediatoren, unter anderem Histamin, Serotonin, Interleukine, Proteoglykane, Proteasen sowie Stickstoffmonoxide (43). Nicht jede Mastzelle enthält alle der genannten Substanzen in ihren Granula (44). Auf die glatte Muskulatur wirkende Mediatoren der Mastzelle sind Histamin, Serotonin, PAF (platelet activating factor) und verschiedene Prostaglandine (45). ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis) bewirkt eine chemotaktische Anziehung von Eosinophilen und Neutrophilen (39). NCF (neutrophil chemotactic factor) zieht die Neutrophilen in vitro an und deaktiviert sie. Histamin moduliert die Migration der Leukozyten durch die Aktivierung der Eosinophilen über die H1-Rezeptoren oder eine Deaktivierung zusammen mit Neutrophilen über H2-Rezeptoren. Die Degranulation erfolgt unter anderem durch eine IgE-vermittelte Aktivierung (46).

Es gibt drei Arten von Mastzell-abhängigen Mediatoren. Diese sind granula-assoziierte Mediatoren, lipid-abhängige Mediatoren und Zytokine. Heparin, ein granula-assoziiertes Mediator, stimuliert in vitro die Zellproliferation und die Zellmigration (47, 48). In vivo ist die Funktion des Heparins auf die Angiogenese innerhalb des Tumors unterschiedlich, zum einen stimulierend (49),(50) inhibierend (51, 52) oder ohne Wirkung (53, 54). Für Histamine ist es bekannt, dass sie einen positiven Effekt auf die Angiogenese haben (55).

Taskinen und Mitarbeiter (56) zeigten bei über 90 Patienten mit einem Follikulär Lymphom, dass eine hohe Anzahl an Mastzellen im Vergleich zu Patienten mit einer geringen Anzahl an Mastzellen ein schlechteres progressionsfreies 4-Jahresüberleben nach einer R-CHOP Therapie aufweisen. Dies gilt sowohl für Patienten im Rezidiv als auch bei Erstdiagnose. Wohingegen diese Ergebnisse für Patienten, die ohne Rituximab behandelt wurden – also nur CHOP erhielten, nicht beobachtet werden konnte. Außerdem haben sie aufgezeigt, dass der positiv prognostische Wert der TAM nur bei Patienten mit wenigen Mastzellen signifikant war (56). Man vermutet, dass die Mastzellen die TAM negativ regulieren.

Vergleichbare Ergebnisse sind beim Hodgkin-Lymphom mit über 120 Patienten bekannt. Bei diesem Lymphom bewirkte eine hohe Anzahl an Mastzellen ein signifikant ungünstigeres Rezidiv-Freies-Überleben (57). Außerdem wurde eine Interaktion zwischen den Mastzellen und den Hodgkin- und Reed-Sternberg-Zellen über einen CD30-CD30 Liganden gezeigt, welches scheinbar mit dem Verlauf des

Tumors korreliert (58, 59). Eine retrospektive Studie mit über 100 Hodgkin Patienten lieferte keine signifikanten Korrelationen zwischen den infiltrierenden Mastzellen und dem Gesamtüberleben der Patienten (60). Ein möglicher Erklärungsansatz, wieso die Mastzellen mit einer schlechteren Prognose korrelieren, ist, dass die Mastzellen die Angiogenese aktivieren und somit dem Tumor ein günstigeres Milieu zum Wachstum und zur Ausbreitung bieten. Dundar und Mitarbeiter zeigten 2008 beim Nicht-Kleinzelligem Bronchialkarzinom eine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl der Mastzellen und der Anzahl der Mikrogefäße (61). Gleichartige Ergebnisse ergaben Untersuchungen von Gulubova und Mitarbeiter beim Kolorektalen Karzinom. Sie zeigten bei über 100 Patienten eine signifikante Beziehung zwischen den Mastzellen und der Gefäßdichte im Tumor. Patienten mit vielen Mastzellen wiesen eine hohe Gefäßdichte auf, was zu einer schlechteren Prognose führt, im Gegensatz zu Patienten mit wenigen Tumor infiltrierenden Mastzellen und dementsprechend einer geringeren Gefäßdichte (37). Auch bei den therapie-resistenten Hodgkin-Lymphomen kommen die tumorinfiltrierenden Mastzellen wesentlich häufiger vor als bei den therapie-ansprechenden Hodgkin-Lymphomen. Außerdem korreliert nach Canioni die B-Symptomatik mit der Anwesenheit der Mastzellen (62).

Im Gegensatz dazu beobachtete man beim malignen Pleuramesotheliom ein besseres Ergebnis bei Patienten, die mit IL-2 therapiert wurden, um unter anderem einen Anstieg der Mastzellen zu erreichen. Auch die Gefäßdichte des Tumors war bei diesen Patienten günstiger als bei der Vergleichsgruppe (63). Vergleichbare Ergebnisse liegen beim Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom vor. Bei über 60 Patienten war eine schlechtere 5-Jahres Überlebensrate mit einer geringeren Mastzellendichte um dem Tumor assoziiert (64). Auch beim diffus großzelligem Lymphom wurden übereinstimmende Ergebnisse mit über 150 Patienten erhoben. Patienten mit einer hohen Anzahl an Mastzellen haben eine signifikant bessere Prognose als Patienten mit wenigen Mastzellen (65). Auch hier wird eine Interaktion über einen CD40-CD40 Liganden vermutet. 2009 zeigten Fleischmann und Mitarbeiter ähnliche Resultate beim Prostata Karzinom. Patienten mit einer hohen Dichte an tumorinfiltrierenden Mastzellen hatten eine signifikant geringere Menge an prostataspezifischem Antigen im Vergleich zu Patienten mit einer geringeren Dichte an Mastzellen. Außerdem stellten sie fest, dass die Abnahme der Mastzellendichte im Gewebe mit dem progressionsfreien Überleben korreliert. Patienten ohne Tumor infiltrierende Mastzellen hatten dementsprechend die schlechteste Prognose (66).

In unserer Studie sind aus den untersuchenden Fällen 82 Fälle für die Mastzellen ausgewertet worden. Dabei ist zum einen die konventionelle Färbung nach Giemsa und zum anderen die immunhistochemische Färbung mit CD 117 untersucht worden. Aus beiden Verfahren sind keine statistisch signifikanten Ergebnisse bezüglich des Gesamtüberlebens ermittelt worden. Auch die Hotspot-Analyse lieferte keine signifikanten Ergebnisse. Der Unterschied von fünf Monaten Gesamtüberleben bei den Patienten mit durchschnittlich weniger als einer tumorinfiltrierenden Mastzelle (30 Monate Gesamtüberleben) war nicht signifikant gegenüber der Gruppe mit mehr als einer Mastzelle (25 Monate) in der Giemsa-Färbung. In der Hotspotanalyse war dieser Unterschied sogar nur zwei Monate. Somit konnte kein prognostischer Wert der tumorinfiltrierenden Mastzellendichte beim MCL gezeigt werden.

Die IDC gehört wie die FDC und die Langerhans-Zelle zu der Gruppe der dendritischen Zellen (67). Vielmehr gehört diese Gruppe zu der Familie der Makrophagen/ Histozyten. Ihren Namen verdanken sie ihren fünf bis neun Ausläufern mit denen sie ihrer Funktion als antigenpräsentierende Zelle nachgehen (68). Dadurch besitzen sie eine große Oberfläche für die Antigenpräsentation (69, 70). Sie entstehen aus CD-34 positiven pluripotenten Stammzellen aus dem Knochenmark. Als unreife Zellen sind sie in der Lage in fast jedes Gewebe zu immigrieren. Ihre weitere Differenzierung erfahren sie durch den Kontakt mit Fremdanitgenen, die sie nach dem Prozessieren über die Lymphbahnen zu den regionären Lymphknoten transportieren. Dieser Reifungsprozess verhindert eine weitere Aufnahme von Antigenen, außerdem ermöglicht sie die Antigenpräsentation und die Stimulation anderer Immunzellen.

Die Langerhans-Zellen exprimieren wie alle anderen dendritischen Zellen MHC-II Moleküle zur Antigenpräsentation. Charakteristisch sind ihre Birbeck-Granula und die Expression von CD1a und S100. Aufenthaltsort ist neben den Schleimhäuten überwiegend die Epidermis. Nach Antigenaufnahme differenzieren sie auf dem Weg zu den Lymphknoten zu IDC. Diese präsentieren im Gegensatz zu den FDC in den parakortikalen Zonen der Lymphknoten den naiven T-Zellen ihre Antigene (69, 70). Da sie zehn bis 100 Mal effizienter Lymphozyten stimulieren als andere Zellen gehören sie zu den potentesten Antigenpräsentierenden Zellen (71, 72). Außerdem sind die dendritischen Zellen in der Lage über die Sekretion von IL-12 TH1-Zellen zu

stimulieren, wobei eine Unterdrückung der IL-12 Sekretion zu einer TH2-Immunantwort führt (73, 74).

Beim MCL konnte die Arbeitsgruppe von Schrader 2005 zeigen, dass bei betroffenen Patientin, deren FDC bestimmte Wachstumsmuster zeigen, ein besseres Gesamtüberleben aufwiesen als die Patienten deren FDC diffus im Gewebe verteilt waren (18).

In der vorliegenden Arbeit waren von den insgesamt 93 Fällen 83 Fälle mit der S100 Färbung auswertbar. Trotz des 13 Monate kürzeren Gesamtüberlebens bei Patienten mit weniger als vier IDC/HPF im Tumor im Vergleich zu den Patienten mit mehr als vier tumorinfiltrierenden IDC pro High-Powerfield, konnte kein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden. Scheinbar ist die Tendenz aber gegeben, dass Patienten mit einem MCL bei einer hohen Dichte an tumorinfiltrierenden IDC ein günstigeres Gesamtüberleben aufweisen als Patienten mit weniger IDC. Ein möglicher Erklärungsansatz könnte die 100fach potentere Stimulierung der Lymphozyten sein, die in der Eliminierung der körpereigenen entarteten Zellen eine wesentliche Funktion darstellen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das MCL hat mit einer medianen Gesamtüberlebenszeit von drei bis vier Jahren unter den Non-Hodgkin-Lymphomen eher einen aggressiven klinischen Verlauf. Es gibt nur wenige anerkannte Prognosefaktoren wie Alter, Stadium, MIPI und eine hohe Expression von Proliferationsassoziierten Proteinen. Für die Therapiestratifizierung werden weitere Prognosefaktoren benötigt. Bei vielen Krebserkrankungen spielen reaktive Tumor infiltrierende Immunzellen eine Rolle für den klinischen Verlauf. Es existieren nur wenige Studien zu TAM und Histiocyten und deren Bedeutung für das Gesamtüberleben in Lymphomen und es findet sich keine Untersuchung speziell zum MCL.

In der vorliegenden Arbeit wurden Lymphknoten von 93 Patienten (71 Männer, 22 Frauen) mit einem MCL vor Therapiebeginn auf die Anzahl der TAM, Mastzellen und IDC immunhistochemisch untersucht. Dies erfolgte mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen CD68, S100 und CD117. Es wurden in jedem Präparat in zehn HPF die markierten, positiven Zellen bestimmt und deren Mittelwert ermittelt. Anschließend wurden die Ergebnisse mit den klinischen Daten korreliert.

In der Untersuchung von CD68 positiven Makrophagen konnten wir zeigen, dass Patienten mit MCL und wenigen Makrophagen (unter 10/HPF) ein deutlich und statistisch signifikant ($p=0.0267$) längeres Überleben mit 37.7 Monaten aufwiesen als die Gruppe mit einer hohen Anzahl an Makrophagen (über 10/HPF). Dies galt auch für die Analyse der Hotspots mit Werten über und unter 20/HPF ($p=0.0059$). Bisherige Studienergebnisse wie beim Follikulär Lymphom stimmen mit denen unserer Arbeit überein.

In der Untersuchung der tumorinfiltrierenden Mastzellen fand sich sowohl bei der Giemsa-Färbung ($p=0.3004$ und 0.9348) als auch bei der CD117-Untersuchung ($p=0.8370$ und $p=0.9229$) kein signifikanter Unterschied beim Gesamtüberleben.

Ähnlich verhält es sich bei den Ergebnissen der IDC, welche mit der S100 Färbung dargestellt wurden. Auch hier bestand kein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben in Bezug auf die Anzahl der tumorinfiltrierenden IDC ($p=0.6120$ und $p=0.2937$).

Abschließend ist festzuhalten, dass Patienten mit einer hohen Dichte an TAM ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben aufweisen als diejenigen mit einer kleineren Dichte. Somit konnten wir zum ersten Mal beim MCL zeigen, dass TAM einen prognostischen Wert für das Gesamtüberleben bei dieser Erkrankung haben. In zukünftigen Studien sollten diese Erkenntnisse an einem größeren Kollektiv untersucht werden, die auch mit Immun-Chemotherapien wie mit Rituximab (Anti-CD20 Antikörper) behandelt wurden.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Lennert K, Mohri N, Stein H, Kaiserling E. The histopathology of malignant lymphomata. *Br J Haematol* 1975;31 SUPPL:193-203.
- (2) Banks PM, Chan J, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Gatter K, Grogan TM, Harris NL, Isaacson PG, Jaffe ES. Mantle cell lymphoma. A proposal for unification of morphologic, immunologic, and molecular data. *Am J Surg Pathol* 1992 ;16(7):637-40.
- (3) Brittinger G, Bartels H, Common H, Duhmke E, Fulle HH, Gunzer U, Gyenes T, Heinz R, König E, Meusers P. Clinical and prognostic relevance of the Kiel classification of non-Hodgkin lymphomas results of a prospective multicenter study by the Kiel Lymphoma Study Group. *Hematol Oncol* 1984 ;2(3):269-306.
- (4) Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press; 2001.
- (5) Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, Berger F, Kluin P, Ott G, Pileri S, Pedrinis E, Feller AC, Merz H, Janssen D, Hansmann ML, Krieken H, Moller P, Stein H, Unterhalt M, Hiddemann W, Parwaresch R. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. *Br J Haematol* 2005 ;131(1):29-38.
- (6) Williams ME, Meeker TC, Swerdlow SH. Rearrangement of the chromosome 11 bcl-1 locus in centrocytic lymphoma: analysis with multiple breakpoint probes. *Blood* 1991 ;78(2):493-8.
- (7) Zucca E, Stein H, Coiffier B. European Lymphoma Task Force (ELTF): Report of the workshop on Mantle Cell Lymphoma (MCL). *Ann Oncol* 1994 ;5(6):507-11.
- (8) Meusers P, Hense J, Brittinger G. Mantle cell lymphoma: diagnostic criteria, clinical aspects and therapeutic problems. *Leukemia* 1997;11 Suppl 2:S60-4.

- (9) Weisenburger DD, Armitage JO. Mantle cell lymphoma-- an entity comes of age. *Blood* 1996;87(11):4483-94.
- (10) Lenz G, Dreyling M, Hiddemann W. Mantle cell lymphoma: established therapeutic options and future directions. *Ann Hematol* 2004;83(2):71-7.
- (11) Dreyling M, Lenz G, Hoster E, Van Hoof A, Gisselbrecht C, Schmits R, Metzner B, Truemper L, Reiser M, Steinhauer H, Boiron JM, Boogaerts MA, Aldaoud A, Silingardi V, Kluin-Nelemans HC, Hasford J, Parwaresch R, Unterhalt M, Hiddemann W. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood* 2005;105(7):2677-84.
- (12) Campo E, Raffeld M, Jaffe ES. Mantle-cell lymphoma. *Semin Hematol* 1999;36(2):115-27.
- (13) Andersen NS, Jensen MK, de Nully BP, Geisler CH. A Danish population-based analysis of 105 mantle cell lymphoma patients. incidences, clinical features, response, survival and prognostic factors. *Eur J Cancer* 2002 ;38 (3):401 -8.
- (14) Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, Van HA, Kluin-Nelemans HC, Pfreundschuh M, Reiser M, Metzner B, Einsele H, Peter N, Jung W, Wormann B, Ludwig WD, Duhren U, Eimermacher H, Wandt H, Hasford J, Hiddemann W, Unterhalt M. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* 2008;111(2):558-65.
- (15) Schrader C, Meusers P, Brittinger G, Teymoortash A, Siebmann JU, Janssen D, Parwaresch R, Tiemann M. Topoisomerase IIalpha expression in mantle cell lymphoma: a marker of cell proliferation and a prognostic factor for clinical outcome. *Leukemia* 2004;18(7):1200-6.

- (16) Schrader C, Janssen D, Klapper W, Siebmann JU, Meusers P, Brittinger G, Kneba M, Tiemann M, Parwaresch R. Minichromosome maintenance protein 6, a proliferation marker superior to Ki-67 and independent predictor of survival in patients with mantle cell lymphoma. *Br J Cancer* 2005;93(8):939-45.
- (17) Schrader C, Janssen D, Meusers P, Brittinger G, Siebmann JU, Parwaresch R, Tiemann M. Repp86: a new prognostic marker in mantle cell lymphoma. *Eur J Haematol* 2005;75(6):498-504.
- (18) Schrader C, Meusers P, Brittinger G, Janssen D, Teymoortash A, Siebmann JU, Parwaresch R, Tiemann M. Growth pattern and distribution of follicular dendritic cells in mantle cell lymphoma: a clinicopathological study of 96 patients. *Virchows Arch* 2006;448(2):151-9.
- (19) Ribatti D, Vacca A, Nico B, Quondamatteo F, Ria R, Minischetti M, Marzullo A, Herken R, Roncali L, Dammacco F. Bone marrow angiogenesis and mast cell density increase simultaneously with progression of human multiple myeloma. *Br J Cancer* 1999;79(3-4):451-5.
- (20) Vacca A, Ribatti D, Ruco L, Giacchetta F, Nico B, Quondamatteo F, Ria R, Iurlaro M, Dammacco F. Angiogenesis extent and macrophage density increase simultaneously with pathological progression in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer* 1999;79(5-6):965-70.
- (21) Bernardini G, Ribatti D, Spinetti G, Morbidelli L, Ziche M, Santoni A, Capogrossi MC, Napolitano M. In vitro and in vivo models to study chemokine regulation of angiogenesis. *Methods Mol Biol* 2004;239:223-32.
- (22) Meusers P, Engelhard M, Bartels H, Binder T, Fulle HH, Gorg K, Gunzer U, Havemann K, Kayser W, Konig E. Multicentre randomized therapeutic trial for advanced centrocytic lymphoma: anthracycline does not improve the prognosis. *Hematol Oncol* 1989;7(5):365-80.

- (23) Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, Gerdes J. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992 ;168(4):357-63.
- (24) Tolksdorf G, Stein H, Lennert K. Morphological and immunological definition of a malignant lymphoma derived from germinal-centre cells with cleaved nuclei (centrocytes). *Br J Cancer* 1980;41(2):168-82.
- (25) Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994 ;84(5):1361-92.
- (26) Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, Makrigiannakis A, Gray H, Schlienger K, Liebman MN, Rubin SC, Coukos G. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003 ;348(3):203-13.
- (27) Ladanyi A, Somlai B, Gilde K, Fejos Z, Gaudi I, Timar J. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(2):521-30.
- (28) Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, Mizuno T, Aokage K, Saijo N, Nishiwaki Y, Gemma A, Kudoh S, Ochiai A. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer* 2008 ;113(6):1387-95.
- (29) Ma J, Liu L, Che G, Yu N, Dai F, You Z. The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time. *BMC Cancer* 2010;10:112.
- (30) Ritgen M, Bottcher S, Stilgenbauer S, Bunjes D, Schubert J, Cohen S, Humpe A, Hallek M, Kneba M, Schmitz N, Dohner H, Dreger P. Quantitative MRD monitoring identifies distinct GVL response patterns after allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: results from the GCLLSG CLL3X trial. *Leukemia* 2008;22(7):1377-86.

- (31) Dreger P, Dohner H, Ritgen M, Bottcher S, Busch R, Dietrich S, Bunjes D, Cohen S, Schubert J, Hegenbart U, Beelen D, Zeis M, Stadler M, Hasenkamp J, Uharek L, Scheid C, Humpe A, Zenz T, Winkler D, Hallek M, Kneba M, Schmitz N, Stilgenbauer S. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood* 2010;116(14):2438-47.
- (32) Canioni D, Salles G, Mounier N, Brousse N, Keuppens M, Morschhauser F, Lamy T, Sonet A, Rousselet MC, Foussard C, Xerri L. High numbers of tumor-associated macrophages have an adverse prognostic value that can be circumvented by rituximab in patients with follicular lymphoma enrolled onto the GELA-GOELAMS FL-2000 trial. *J Clin Oncol* 2008;26(3):440-6.
- (33) Taskinen M, Karjalainen-Lindsberg ML, Nyman H, Eerola LM, Leppa S. A high tumor-associated macrophage content predicts favorable outcome in follicular lymphoma patients treated with rituximab and cyclophosphamide-doxorubicin-vincristine-prednisone. *Clin Cancer Res* 2007;13(19):5784-9.
- (34) Hasselblom S, Hansson U, Sigurdardottir M, Nilsson-Ehle H, Ridell B, Andersson PO. Expression of CD68+ tumor-associated macrophages in patients with diffuse large B-cell lymphoma and its relation to prognosis. *Pathol Int* 2008;58(8):529-32.
- (35) Beer TW, Ng LB, Murray K. Mast cells have prognostic value in Merkel cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 2008;30(1):27-30.
- (36) Ju MJ, Qiu SJ, Gao Q, Fan J, Cai MY, Li YW, Tang ZY. Combination of peritumoral mast cells and T-regulatory cells predicts prognosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009;100(7):1267-74.
- (37) Gulubova M, Vlaykova T. Prognostic significance of mast cell number and microvascular density for the survival of patients with primary colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24(7):1265-75.
- (38) Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiol Rev* 1997;77(4):1033-79.

- (39) Galli SJ. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med* 1993;328(4):257-65.
- (40) Kitamura Y, Kasugai T, Arizono N, Matsuda H. Development of mast cells and basophils: processes and regulation mechanisms. *Am J Med Sci* 1993;306(3):185-91.
- (41) Wedemeyer J, Tsai M, Galli SJ. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Curr Opin Immunol* 2000;12(6):624-31.
- (42) Gruber BL. Mast cells in the pathogenesis of fibrosis. *Curr Rheumatol Rep* 2003;5(2):147-53.
- (43) Andjelkovic AV, Pachter JS. Central nervous system endothelium in neuroinflammatory, neuroinfectious, and neurodegenerative disease. *J Neurosci Res* 1998;51(4):423-30.
- (44) Silver R, Silverman AJ, Vitkovic L, Lederhendler II. Mast cells in the brain: evidence and functional significance. *Trends Neurosci* 1996;19(1):25-31.
- (45) Grandel KE, Farr RS, Wanderer AA, Eisenstadt TC, Wasserman SI. Association of platelet-activating factor with primary acquired cold urticaria. *N Engl J Med* 1985;313(7):405-9.
- (46) Benoist C, Mathis D. Mast cells in autoimmune disease. *Nature* 2002;420(6917):875-8.
- (47) Thornton SC, Mueller SN, Levine EM. Human endothelial cells: use of heparin in cloning and long-term serial cultivation. *Science* 1983;222(4624):623-5.
- (48) Alessandri G, Raju K, Gullino PM. Angiogenesis in vivo and selective mobilization of capillary endothelium in vitro by heparin-copper complex. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1984;1(3):329-46.
- (49) Norrby K, Sorbo J. Heparin enhances angiogenesis by a systemic mode of action. *Int J Exp Pathol* 1992;73(2):147-55.

- (50) Norrby K. Heparin and angiogenesis: a low-molecular-weight fraction inhibits and a high-molecular-weight fraction stimulates angiogenesis systemically. *Haemostasis* 1993;23 Suppl 1:141-9.:141-9.
- (51) Jakobson AM, Hahnenberger R. Antiangiogenic effect of heparin and other sulphated glycosaminoglycans in the chick embryo chorioallantoic membrane. *Pharmacol Toxicol* 1991;69(2):122-6.
- (52) Wilks JW, Scott PS, Vrba LK, Cocuzza JM. Inhibition of angiogenesis with combination treatments of angiostatic steroids and suramin. *Int J Radiat Biol* 1991;60(1-2):73-7.
- (53) Castellot JJ, Jr., Karnovsky MJ, Spiegelman BM. Differentiation-dependent stimulation of neovascularization and endothelial cell chemotaxis by 3T3 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79(18):5597-601.
- (54) Taylor S, Folkman J. Protamine is an inhibitor of angiogenesis. *Nature* 1982;297(5864):307-12.
- (55) Sorbo J, Jakobsson A, Norrby K. Mast-cell histamine is angiogenic through receptors for histamine₁ and histamine₂. *Int J Exp Pathol* 1994;75(1):43-50.
- (56) Taskinen M, Karjalainen-Lindsberg ML, Leppa S. Prognostic influence of tumor-infiltrating mast cells in patients with follicular lymphoma treated with rituximab and CHOP. *Blood* 2008;111(9):4664-7.
- (57) Molin D, Edstrom A, Glimelius I, Glimelius B, Nilsson G, Sundstrom C, Enblad G. Mast cell infiltration correlates with poor prognosis in Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2002 October;119(1):122-4.
- (58) Molin D, Fischer M, Xiang Z, Larsson U, Harvima I, Venge P, Nilsson K, Sundstrom C, Enblad G, Nilsson G. Mast cells express functional CD30 ligand and are the predominant CD30L-positive cells in Hodgkin's disease. *Br J Haematol* 2001;114(3):616-23.

- (59) Fischer M, Juremalm M, Olsson N, Backlin C, Sundstrom C, Nilsson K, Enblad G, Nilsson G. Expression of CCL5/RANTES by Hodgkin and Reed-Sternberg cells and its possible role in the recruitment of mast cells into lymphomatous tissue. *Int J Cancer* 2003;107(2):197-201.
- (60) Keresztes K, Szollosi Z, Simon Z, Tarkanyi I, Nemes Z, Illes A. Retrospective analysis of the prognostic role of tissue eosinophil and mast cells in Hodgkin's lymphoma. *Pathol Oncol Res* 2007;13(3):237-42.
- (61) Dundar E, Oner U, Peker BC, Metintas M, Isiksoy S, Ak G. The significance and relationship between mast cells and tumour angiogenesis in non-small cell lung carcinoma. *J Int Med Res* 2008;36(1):88-95.
- (62) Canioni D, au-Fischer B, Taupin P, Ribrag V, Delarue R, Bosq J, Rubio MT, Roux D, Vasiliu V, Varet B, Brousse N, Hermine O. Prognostic significance of new immunohistochemical markers in refractory classical Hodgkin lymphoma: a study of 59 cases. *PLoS One* 2009;4(7):e6341.
- (63) Ali G, Boldrini L, Lucchi M, Picchi A, Dell'Omodarme M, Prati MC, Mussi A, Corsi V, Fontanini G. Treatment with interleukin-2 in malignant pleural mesothelioma: immunological and angiogenetic assessment and prognostic impact. *Br J Cancer* 2009;101(11):1869-75.
- (64) Carlini MJ, Dalurzo MC, Lastiri JM, Smith DE, Vasallo BC, Puricelli LI, Lauria de Cidre LS. Mast cell phenotypes and microvessels in non-small cell lung cancer and its prognostic significance. *Hum Pathol* 2010;41(5):697-705.
- (65) Hedstrom G, Berglund M, Molin D, Fischer M, Nilsson G, Thunberg U, Book M, Sundstrom C, Rosenquist R, Roos G, Erlanson M, Amini RM, Enblad G. Mast cell infiltration is a favourable prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2007;138(1):68-71.
- (66) Fleischmann A, Schlomm T, Kollermann J, Sekulic N, Huland H, Mirlacher M, Sauter G, Simon R, Erbersdobler A. Immunological microenvironment in prostate cancer: high mast cell densities are associated with favorable tumor characteristics and good prognosis. *Prostate* 2009;69(9):976-81.

- (67) Malone M. The histiocytoses of childhood. *Histopathology* 1991;19(2):105-19.
- (68) Emile JF, Fraitag S, Leborgne M, de PY, Brousse N. Langerhans' cell histiocytosis cells are activated Langerhans' cells. *J Pathol* 1994;174(2):71-6.
- (69) Nezelof C, Basset F. An hypothesis Langerhans cell histiocytosis: the failure of the immune system to switch from an innate to an adaptive mode. *Pediatr Blood Cancer* 2004;42(5):398-400.
- (70) Pritchard J, Broadbent V. Histiocytosis--an introduction. *Br J Cancer Suppl* 1994;23:S1-3..
- (71) Tazi A, Bouchonnet F, Grandsaigne M, Boumsell L, Hance AJ, Soler P. Evidence that granulocyte macrophage-colony-stimulating factor regulates the distribution and differentiated state of dendritic cells/Langerhans cells in human lung and lung cancers. *J Clin Invest* 1993;91(2):566-76.
- (72) Chu T, Jaffe R. The normal Langerhans cell and the LCH cell. *Br J Cancer Suppl* 1994;23:S4-10.
- (73) Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, Vieira P, Hsieh CS, Culpepper JA, Wysocka M, Trinchieri G, Murphy KM, O'Garra A. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J Immunol* 1995;154(10):5071-9.
- (74) Vieira PL, de Jong EC, Wierenga EA, Kapsenberg ML, Kalinski P. Development of Th1-inducing capacity in myeloid dendritic cells requires environmental instruction. *J Immunol* 2000;164(9):4507-12.

DANKSAGUNG

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. C. Schrader danke ich besonders für die Organisation eines Arbeitsplatzes und des Untersuchungsgutes und die Überlassung des Themas. Hervorzuheben ist seine stetig geduldige Unterstützung und Betreuung bei dieser Dissertation.

Herrn Prof. Dr. med. U. R. Fölsch und Prof. Dr. med. Stefan Schreiber, Direktor der I. Medizinischen Klinik, UKSH Campus Kiel danke ich für die Möglichkeit die vorliegende Dissertation in ihrer Klinik durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. P. Meusers und Herrn Prof. Dr. G. Brittinger, ehemaliger Direktor der Klinik für Hämatologie des Universitätsklinikums Essen, danke ich für die Bereitstellung aller klinischen Daten der Therapiestudien und die Hilfe bei der Auswertung der Ergebnisse.

Herrn Dr. J. H. Claasen, ehemaliger Mitarbeiter der Klinik für Allgemeine Innere Medizin, Kiel, jetzt Klinik für Neurologie des Uniklinikums Dresden, danke ich für die Unterstützung bei der Auswertung der Schnittpräparate und der Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. W. Klapper, Direktor der Sektion für Hämatopathologie/ Lymphknotenregister Kiel und dem medizinisch technischen Assistenten Michael Weiss, möchte ich für die Bereitstellung des Materials, der klinischen Angaben und der Hilfe bei der Anfertigung der immunhistochemischen Färbungen danken.

Herrn Dr. Markus Tiemann, Institut für Hämatopathologie Hamburg, danke ich für die Unterstützung bei der Anfertigung der CD 117 Färbung.

Die der Dissertationsschrift zugrunde liegende Arbeit wurde finanziell von der Firma Novartis Pharma GmbH unterstützt.

Ein letzter herzlicher Dank gilt meiner Ehefrau Mine Sirin und meiner Familie für Ihre Geduld und Unterstützung.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Fatih Sirin
Geburtsdatum/Ort: 14.05.1985, Berlin
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Familienstand: verheiratet
Sprachliche Kenntnisse: deutsch
türkisch (Muttersprache)
englisch

Schulbildung:

06/2004 Thomas Mann Oberschule, Berlin, Hochschulreife

Hochschulausbildung:

10/2004 - 11/2010 Studium der Humanmedizin an der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

08/2009 - 08/2010 Praktisches Jahr

11/2010 Approbation als Arzt

Berufstätigkeit:

02/2011 – 05/2013 Assistenzarzt an der I. Medizinischen Klinik des
Städtischen Krankenhauses Kiel

Seit 06/2013 Assistenzarzt zur Weiterbildung Facharzt für
Arbeitsmedizin bei der B.A.D. GmbH

Wissenschaftliche Tätigkeiten:

02/2008 Beginn der vorliegenden Dissertation in der
Klinik für Allgemeine Innere Medizin
(Direktor: Prof. Dr. Fölsch), Dr. Vater: PD Dr. C. Schrader

Mitgliedschaften und sonstige Tätigkeiten :

08/2008 - 07/2010 Förde Bildungsverein in SH e.V.
Unterstützung von Schülern mit Migrationshintergrund
Schwerpunkt : Nachhilfe und Freizeitaktivitäten

10/2008 – 10/2010 Vorstandsvorsitzender der Hochschulgruppe Tangente
an der Christian- Albrechts- Universität zu Kiel

Seit 01/2011 Mitglied des Vorstands des Nord-Dialog e.V.
Schwerpunkt : Interkultureller Dialog

Kiel, den 12.01.2014

VERÖFFENTLICHUNGEN

- [1] Schrader C, **Sirin F**, Meusers P, Brittinger G, Claasen J and Klapper K. (2011)
Tumor infiltrating CD 68 positive macrophages predict survival in mantle cell lymphoma. Hematologica: 96: (Suppl.2) #1388

- [2] Schrader C, **Sirin F**, Meusers P, Brittinger G, Claasen J and Klapper K. (2011)
Account of Tumor infiltrating macrophages is a prognostic factor for patients with mantle cell lymphoma. Eur J Cancer: 47: (Suppl.1) #9212

- [3] Schrader C, **Sirin F**, Meusers P, Brittinger G, Claasen J and Klapper K. (2011)
Account of Tumor infiltrating macrophages is a prognostic factor for patients with mantle cell lymphoma. Onkologie: 34: (Suppl.6) #477

- [4] Schrader C, **Sirin F**, Meusers P, Brittinger G, Claasen J and Klapper K. (2012)
Account of Tumor infiltrating macrophages is a prognostic factor for patients with mantle cell lymphoma. Der Pathologe: 33: (Suppl.1) #Do053